



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CAMPUS II – AREIA PB
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE PÓS-GRADUÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

BOUBA CUTÂNEA ATÍPICA E MISTA EM FRANGOS CAIPIRAS
VACINADOS NO NORDESTE BRASILEIRO

Rafanele Trajano Sousa

Médico Veterinário

AREIA – PB

2019

RAFANELE TRAJANO SOUSA

**BOUBA CUTÂNEA ATÍPICA E MISTA EM FRANGOS CAIPIRAS
VACINADOS NO NORDESTE BRASILEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Barbosa de Lucena

AREIA - PB

2019

Catálogo na publicação
Seção de Catálogo e Classificação

S725b Sousa, Rafanele Trajano.

Bouba cutânea atípica e mista em frangos
caipiras vacinados no nordeste brasileiro. /
Rafanele Trajano Sousa. - Areia, 2019.
33 f. : il.

Orientação: Ricardo Barbosa de Lucena.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Poxvírus. 2. Frangos vacinados. 3. Lesões
atípicas. 4. Derm. I. Lucena, Ricardo Barbosa de. II.
Título

UFPB/CCA-AREIA

RAFANELE TRAJANO SOUSA

**BOUBA CUTÂNEA ATÍPICA E MISTA EM FRANGOS CAIPIRAS
VACINADOS NO NORDESTE BRASILEIRO**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal do Centro de Ciências
Agrárias da Universidade Federal da
Paraíba, como parte das exigências
para a obtenção do título de Mestre
em Ciência Animal. Área de
Concentração Saúde Animal no Brejo
Paraibano.

APROVADA EM 26/02/2019

BANCA EXAMINADORA



Dr. RICARDO BARBOSA DE LUCENA

UFPB

Orientador



Dr. FELÍCIO GARINO JÚNIOR

Examinador



Dr. JEANN LEAL DE ARAÚJO

Examinador

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

RAFANELE TRAJANO SOUSA – Nascido no Rio de Janeiro, RJ, em 07 de março de 1988. Técnico Agrícola pelo Colégio Agrícola “Vidal de Negreiros” em maio de 2008. Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB), em julho de 2016. Tem experiência na cadeia produtiva de avicultura, exercendo responsabilidade técnica em granjas comerciais. Foi instrutor no PRONATEC. Tutor presencial do Curso Técnico em Agronegócio e Instrutor Técnico de Formação Profissional Rural no SENAR. Consultor Técnico do SEBRAE e SENAR nas áreas de avicultura e suinocultura.

DEDICATÓRIA

A Deus

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus, pela força e fé necessária para concluir esta etapa tão importante em minha vida.

A minha família, sempre me alicerçando com o melhor que podia: Amor e dedicação. Em especial a Minha esposa Rayana Vanessa, minha principal motivadora nesta trajetória.

Minha gratidão especial à Francisca Maria Barbosa, pessoa fundamental para conclusão deste projeto, dedicando conhecimento, tempo e paciência para que este momento fosse possível. Lembrarei sempre do seu esforço.

Agradeço aos colegas de turma do PPGCan pelo compartilhamento dos momentos de aprendizado e conhecimento, em especial a Rúbia Avlade pela parceria nas atividades e seminários.

A coordenação e secretaria do PPGCan pelo afinho no suporte e na busca para melhorar cada vez mais o programa e a qualidade na formação de seus egressos. Válida a lembrança do professor Ricardo Lucena (Coordenador) e Jozênio de Souza (Secretário).

Em se falando do professor Ricardo Lucena, além de agradecer pelo acolhimento como orientado, parabenizá-lo pelo exemplo que inspira aqueles que o conhecem, pela sua dedicação, humildade e profissionalismo. Muito obrigado e parabéns professor!

Ao professor Oliveira Caetano pela orientação inicial, e a todos professores do PPGCan por semear o conhecimento necessário para nos dedicarmos à melhora da sociedade através de nossa atuação profissional.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	9
GENERAL ABSTRACT.....	10
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	11
Etiologia.....	11
Epizootiologia.....	12
Patogenia.....	13
Sinais clínicos	14
Lesões macroscópicas	14
Lesões microscópicas	14
Diagnóstico	15
Tratamento	15
Prevenção e controle	15
OBJETIVOS	17
REFERÊNCIAS.....	18
Capítulo I - BOUBA CUTÂNEA ATÍPICA E MISTA EM FRANGOS CAIPIRAS VACINADOS NO NORDESTE BRASILEIRO	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	22
INTRODUÇÃO	22
MATERIAIS E MÉTODO	23
RESULTADO.....	25
DISCUSSÃO	27
CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS.....	30
FIGURAS	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal

DNA – Deoxyribonucleic acid

ELISA - Enzyme Linked Immunonorbent Assay

OIE – World Organization for Animal Health / Office International des Epizooties

RFLP – Restriction Fragment Length Polymorphism

SPF - Specific Pathogen Free

PCR – Polymerase chain reaction

USDA - United States Department of Agriculture

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Infestação por *Dermanyssus gallinae* em frangos acometidos por boubas. Presença do ectoparasita na pele. (B) Lesões redondas a alongadas, brancacentas, nas áreas do peito, asas, pescoço, coxas e região ventral. (C) Lesões coalescentes, amareladas e crostosas na região dorso-lateral e coxas, glóbulo ocular parcialmente recoberto por secreção caseosa. (D) Espessamento do saco aéreo preenchido com massa caseosa.....31

Figura 2. Aspectos histopatológicos da boubas em frangos. (A) Degeneração balonosa das células epiteliais da epiderme, com a presença de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos característicos (corpos de Bollinger) (setas). HE, obj. 40x. (B) Corpúsculos de inclusão eosinofílicos intracitoplasmáticos (corpos de Bollinger) na derme (seta). HE, obj. 20x.....32

BOUBA CUTÂNEA ATÍPICA E MISTA EM FRANGOS CAIPIRAS VACINADOS NO NORDESTE BRASILEIRO

RESUMO GERAL: A bouba aviária é uma doença de distribuição mundial, causada por um avipoxvirus da família poxviridae. Nos últimos anos, estudos e relatos denotam as variações na forma da doença, com a descoberta de novas variantes e características de infecção, demandando monitoramento dos casos com relato das interações epidemiológicas dos avipoxvírus com seus vetores e hospedeiros. Com esta finalidade, este trabalho descreve surto de casos atípicos de bouba aviária em frangos caipiras vacinados. O surto ocorreu em Alagoa Grande-PB, em criação de 180 aves, que apresentavam crescimento retardado e infestação por *Dermanyssus gallinae*. Foram identificadas 40% das aves com nódulos na pele e 20% destas apresentavam associação à coriza e conjuntivite. Na necropsia foram observadas lesões nodulares em todo o corpo das aves. Pseudomembranas e massas caseosas foram verificadas no trato respiratório superior e sacos aéreos cervical e torácicos craniais. Na microscopia, foi verificada moderada hiperkeratose ortoceratótica na epiderme e degeneração balonosa, com corpos de Bollinger na derme superficial. No pulmão observou-se perda da arquitetura dos parabrônquios com hiperplasia do epitélio e formação de membranas diftericas no lúmen. Necrose e fibrose no baço e fígado. A verificação das alterações inflamatórias associadas com corpúsculos de inclusões intracitoplasmáticas permitiram a confirmação de bouba aviária com distribuição atípica das lesões, decorrente da interação com o *Dermanyssus gallinae*. Neste caso as medidas de controle e prevenção posterior foram eficazes, mas denotadas as características impactantes deste caso, é necessária a realização de novas pesquisas de agregação de dados e monitoramento sobre o tema na avicultura regional.

Palavras-chave: Poxvírus, frangos vacinados, lesões atípicas, *Dermanyssus gallinae*, controle, histopatologia

ATYPICAL AND MIXED CUTANEOUS BOUBA IN VACCINATED COUNTRY CHICKEN IN NORTHEASTERN BRAZIL

GENERAL ABSTRACT: Avian bouba is a worldwide disease caused by an avipoxvirus of the poxviridae family. In recent years, studies and reports have denoted variations in the form of the disease, with the discovery of new variants and characteristics of infection, requiring monitoring of cases with reports of epidemiological interactions of avipoxviruses with their vectors and hosts. For this purpose, this work describes an outbreak of atypical of avian bouba in vaccinated broiler. The outbreak occurred in Alagoa Grande-PB, rearing 180 birds, which presented delayed growth and infestation by *Dermanyssus gallinae*. We identified 40% of the birds with nodules on the skin and 20% of them were associated with runny nose and conjunctivitis. At necropsy, nodular lesions were observed throughout the body of birds. Pseudomembranes and caseous masses were found in the upper respiratory tract and cranial cervical and thoracic air sacs. On microscopy, moderate orthokeratotic hyperkeratosis was observed in the epidermis and baloneous degeneration, with Bollinger bodies in the superficial dermis. In the lung there was a loss of architecture of the parabronchia with hyperplasia of the epithelium and formation of diphtheria membranes in the lumen. Necrosis and fibrosis in the spleen and liver. The verification of inflammatory changes associated with corpuscles of intracytoplasmic inclusions allowed the confirmation of avian bouba with atypical distribution of lesions, resulting from the interaction with *Dermanyssus gallinae*. In this case, the control and subsequent prevention measures were effective, but given the impactful characteristics of this case, it is necessary to carry out further research for data aggregation, and monitoring on the topic in regional poultry farming.

Keywords: Poxvirus, vaccinated chickens, atypical lesions, *Dermanyssus gallinae*, control, histopathology

CONSIDERAÇÕES GERAIS

No Brasil a avicultura ocupa, atualmente, lugar de destaque na produção de proteína de origem animal para alimentação humana. A carne de frango detém o primeiro lugar em volume produzido (USDA, 2019) e a produção de ovos cresceu 38,4% em 8 anos (ABPA, 2018). Entre os vários segmentos da avicultura, o caipira tem ganhado notoriedade, alicerçado pela maior procura por alimentos produzidos sem ou com menor utilização de agroquímicos e melhores condições de bem-estar animal.

A produção caipira de aves tem grande importância para geração de renda nas propriedades familiares. No Agreste paraibano, centenas de famílias obtêm o sustento a partir desta atividade. Somente em uma das três cooperativas de avicultura caipira do agreste paraibano, estão reunidos cento e vinte e oito produtores que juntos alojam mais de cento e cinquenta mil aves (AVICULTURA INDUSTRIAL, 2016). No entanto, para que a avicultura caipira possa atender as expectativas, é necessária aplicação de manejo adequado, principalmente o manejo sanitário para reduzir as perdas por enfermidades. Entre as enfermidades com impacto negativo na criação, a boubia aviária é frequentemente relatada em vários países (FERREIRA et al. 2018).

A boubia aviária é uma doença de origem viral de disseminação lenta que causa lesões nodulares proliferativas em pele desprovida de penas na forma cutânea ou lesões fibrinonecróticas e proliferativas nas membranas mucosas do trato respiratório superior e digestório na forma diftérica (REVOLLEDO, 2009). Esta doença pode causar perdas por diminuição no desempenho ou mortalidade em casos mais graves.

De distribuição cosmopolita esta enfermidade recebe diferentes denominações de acordo com a localidade: varíola aviária (França e Alemanha), difteria aviária (Espanha), boubia aviária (Portugal), além de epiteloma contagioso, varíola gallinarum em outras localidades (TRIPATHY & REED, 2013). No Brasil é reconhecida como boubia aviária e entre os avicultores do nordeste é denominada como caroço.

Etiologia

O agente pertence à família *Poxviridae*, subfamília *Chordopoxvirinae*, gênero *Avipoxvirus*. As galinhas são acometidas pelo vírus da espécie *Fowlpoxvírus*, um vírion DNA de cadeia dupla, linear e contínua (130-375 kb), com replicação no citoplasma da célula (SANTOS, 2018). Tem formato ovaloide com núcleo central bicôncavo e mais eletrodenso,

dois corpos laterais internos ao envelope. A camada externa é composta por túbulos superficiais distribuídos ao acaso (BORETTI, 2006).

Dez espécies já foram descritas e este número tende a aumentar, pois cada vez mais avipoxviroses tem sido identificadas e caracterizadas em outras espécies de aves. O Canarypox virus tem sido usado como vetor em vacinas recombinantes já estabelecidas para uso em cães ou em desenvolvimento, como contra o vírus da raiva e o HIV humano (SANTOS, 2018). De maneira geral, os avipoxvirus têm morfologia semelhante, e em certos casos, a exposição a um destes produz imunidade contra um ou mais vírus do grupo (BORETTI, 2006).

Embora sejam idênticos, as espécies de vírus têm considerável especificidade, característica verificada por Cox (1980) em pesquisa realizada com patos, gansos e galinhas e Santos et al. (2009) com *Cracídeos*.

De maneira geral, são relativamente resistentes. Podem sobreviver nas descamações de pele por meses ou até anos, dependendo das condições ambientais. Apresentam resistência à solução de 1% de fenol e formalina 1:1000 por 9 dias. Porém, é inativado por solução de hidróxido de sódio a 1%. Aquecimento por 50°C por 30 ou 8 minutos a 60 °C também inativam o vírus da bouba aviária (BERNARDINO, 2009).

Epizootiologia

O poxvírus aviário tem distribuição mundial, com relato em mais de 230 espécies, com ocorrência em aves selvagens e domésticas, como galinhas, perus, canários, codornas, pombos e psitacídeos (BOLTE et al. 1999). Aparentemente, todas as espécies aviárias são susceptíveis e a infecção pode ocorrer em qualquer idade (BORETTI, 2006). Com maior importância econômica as infecções em galinhas e perus (TRIPATHY & REED, 2013).

A transmissão ocorre por via mecânica, através de lesões na pele ou contato com as vias ocular ou respiratória. A transmissão através de lesões na pele ocorre por agressão entre as aves (canibalismo) ou por artrópodes contaminados durante a hematofagia ou em contato com as lesões. A transmissão por via ocular ou respiratória pode ocorrer por secreções da nasofaringe, ou aerossóis provenientes da descamação das crostas formadas na pele, ocasionando a forma diftérica, já que as células respiratórias são altamente susceptíveis (ELEAZER et al. 1983). Pode ocorrer ainda, transmissão por manipulação inadequada da vacina (REVOLLEDO, 2009).

O período de incubação geralmente é de 4 a 8 dias, mas, pode variar até mais de 30 dias. O vírus pode permanecer na nasofaringe das aves que tiveram a doença e se recuperaram (SANTOS, 2018), constituindo um importante veículo para manutenção da doença nos aviários.

A morbidade varia de algumas aves infectadas até o acometimento de todo o bando. Esta variação decorre da cepa viral presente e adoção de medidas de controle (BERNARDINO, 2009). Na forma cutânea leve ou infecções brandas o curso da doença é de cerca de 2 a 4 semanas. Em casos de cepas virulentas com forma cutânea severa ou diftérica, este período pode alcançar 8 semanas (TRIPATHY & REED, 2013). Nestes casos a mortalidade é superior, podendo alcançar níveis em torno de 50 %. Diferentemente, nas formas brandas a taxa de mortalidade é baixa, sendo os maiores impactos causados pela diminuição na taxa de postura e crescimento (BERNARDINO, 2009).

Patogenia

Embora não esteja totalmente elucidado, sugere-se uma proteína semelhante ao fator de crescimento epidérmico (EGF), como precursora à hiperplasia do tecido acometido e disseminação do vírus pelo organismo animal. Além do gene que codifica esta proteína, no genoma do avipoxvirus, é contemplado homólogo do gene T10 que codifica uma proteína expressa em altos níveis em células epiteliais na traqueia, esôfago e pulmão. Este homólogo de T10 pode ser necessário para o alcance do vírus às células epiteliais do trato respiratório na forma diftérica. Além disso, a codificação de proteínas homólogas dos receptores acoplados à proteína G e lectinas do tipo C NKG2, proteínas CD94 presentes nas células NK e CD69 na superfície dos linfócitos tem sido correlacionada com a replicação viral e interferência na resposta imunológica normal do hospedeiro (AFONSO et al. 2000).

Em estudo conduzido com frangos, após inoculação do vírus intradermicamente, observou-se lesões primárias típicas em pequeno número a partir do 4º dia. A partir do 5º dia formaram-se as pápulas. Em seguida, desenvolveu-se o estágio vesicular, no qual numerosas vesículas agregadas formavam extensas lesões espessas, as quais sofreram descamação e formaram crostas durante a segunda semana após a inoculação. Em aves inoculadas intravenosamente observou-se doença severa com lesões generalizadas, a partir do 12º dia após a inoculação, ocasionando morte de várias aves (MINBAY & KREIER, 1973).

Sinais clínicos

Os sinais variam dependendo da suscetibilidade do hospedeiro, virulência do vírus, distribuição das lesões, e outros fatores complicadores (TRIPATHY & REED, 2013).

Em Passeriformes são observadas as formas cutânea, diftérica, septicêmica e tumoral. Em Psitaciformes, tem sido descrita a forma de coriza. Em galinhas as formas cutânea, diftérica, mista e cutânea atípica. Estas manifestações podem ocorrer de forma isolada, ou juntas na mesma ave ou mesmo lote (SANTOS, 2018).

Na forma cutânea, nódulos desenvolvem-se em área desprovidas de penas, nas patas, no bico e ao redor dos olhos. Os nódulos evoluem para pústulas, formando crostas que podem ser infectadas secundariamente por fungos e bactérias (REVOLLEDO, 2009). Na cutânea atípica, estas lesões se estendem às áreas cobertas de penas.

Na forma diftérica ocorre lesões nas mucosas do trato respiratório superior e digestivo, podendo ocasionar aumento das secreções e interferência na ingestão de alimentos, bebidas e respiração. Desta maneira, as aves apresentam crescimento retardado, diminuição da postura (TRIPATHY & REED, 2013), apatia, depressão, perda de apetite em alguns casos e dificuldade respiratória, podendo causar a morte da ave por asfixia (SANTOS, 2018).

Lesões macroscópicas

Na forma cutânea, as lesões iniciais são pápulas de cor clara. As vesículas e pústulas são, geralmente, amareladas evoluindo para crostas vermelho escuro ou negras nos estágios finais da doença (BERNARDINO, 2009). Estas lesões ocorrem nas regiões desprovidas de penas, mas na forma atípica são verificadas em áreas emplumadas.

Na forma diftérica, há formação de pseudomembranas, lesões amareladas ou degenerativas amareladas nas membranas mucosas da boca, esôfago ou traqueia (TRIPATHY & REED, 2013).

Lesões microscópicas

A lesão mais evidenciada é a hiperplasia do epitélio com alargamento e balonização de células infectadas, bem como alterações inflamatórias associadas. As alterações histopatológicas da mucosa traqueal incluem hipertrofia inicial e hiperplasia de células produtoras de muco, com subsequente aumento de células epiteliais. Nestas, são verificados

os corpos de inclusão citoplasmáticos eosinofílicos característicos, os corpos de Bollinger (TRIPATHY & REED, 2013).

Diagnóstico

O diagnóstico pode ser clínico, microscópico, isolamento e sorologia. Os sinais clínicos observados na forma cutânea são muito característicos e permitiu que os primeiros pesquisadores apresentassem um diagnóstico realista. O reconhecimento clínico da varíola nas formas diftérica e mista é mais complicado. Além dos sinais, a histologia fornece boas evidências da presença de poxvírus. A histologia tornou-se possível a partir do trabalho de Bollinger (1877). Evidenciados e descritos corpos de inclusão no citoplasma de células infectadas que podem ser detectados em esfregaços ou secções de tecido coradas com Wright, Giemsa ou outras colorações (BOLTE et al. 1999).

Para o isolamento, a partir de suspensão preparada com lesões de aves infectadas, o vírus pode ser inoculado em aves por escarificação na crista ou punção na asa, membrana córneoalantóide de embriões galináceos com 9 a 12 dias, e em culturas celulares, método não utilizado para isolamento primário (BERNARDINO, 2009).

Os métodos sorológicos empregados são reação em cadeia de polimerase (PCR), soroneutralização, ensaio imunoenzimático de absorção em fase sólida (ELISA) para detecção de anticorpos e imunodifusão, utilizado para diferenciar poxvírus de galinhas e pombos, mas só é possível se o soro for coletado entre 15 e 20 dias após a infecção (BORETTI, 2006), e apresenta sensibilidade muito baixa (REVOLLEDO, 2009).

A identificação molecular também tem sido utilizada através da RFLP e PCR (REVOLLEDO, 2009), no entanto, testes que envolvem a análise do DNA, ainda não é uma prática comum no Brasil (BERNARDINO, 2009).

Tratamento

Não existe tratamento específico para aves infectadas com avipoxvírus (TRIPATHY; REED, 2013).

Prevenção e controle

A prevenção é baseada em medidas de biossegurança, principalmente no controle dos vetores e vacinação (BORETTI, 2006). Dois tipos de vacinas de vírus vivo são comumente

usados na avicultura comercial, as de vírus pombo e vírus galinha são as mais usadas mundialmente. Estas devem apresentar títulos entre $10^{2,8}$ tcid_{50} e $10^{3,5}$ tcid_{50} para estimular boa imunidade e ao mesmo tempo evitar reações locais que podem contribuir para um processo de refugagem (BERNARDINO, 2009). As instruções de utilização da vacina devem ser seguidas rigorosamente, já que a manipulação inadequada durante a vacinação pode causar contaminação e o desenvolvimento da doença (REVOLLEDO, 2009).

OBJETIVOS

Objetivo Geral: Descrever surto de boubá aviária cutânea atípica e mista em frangos caipiras vacinados no Brejo Paraibano.

Específicos:

- Descrever os aspectos epidemiológicos do surto de boubá aviária;
- Evidenciar as lesões macro e microscópicas verificadas neste caso;
- Descrever as medidas de controle adotadas.

REFERÊNCIAS

AFONSO, C.L. et al. The genome of Fowlpox Virus. **J Virol.** 2000, 74 p.3815-31. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC111890/>>. Acesso em 22 dez. 2019.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório anual 2018**. São Paulo, SP, ABPA p.147, 2018. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

AVICULTURA INDUSTRIAL. Presidente da COPAF fala sobre perspectivas da criação de aves caipiras na região Borborema. Abr. 2016. Disponível em: <<https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/presidente-da-copaf-fala-sobre-perspectivas-da-criacao-de-aves-caipiras-na-regiao-borborema/20150702-092937-o170>>. Acesso em: 20 dez. 2019.

BERNARDINO, A. Bouba aviária. In: BERCHIERI Jr. et al. (orgs.) **Doença das aves**. 2.ed. Campinas, SP: Facta; 2009. Cap. 5, p.723-729.

BOLTE A. L; MEURER J; KALETA E. F. Avian host spectrum of avipoxviruses. **AvianPathol.** 28 c.5 1999 p.415-32. DOI: 10.1080/03079459994434. PubMed PMID:26911595.

BORETTI, L. P. Bouba aviária. In: ANDREATTI FILHO, R. L. (org.) **Saúde aviária e doenças**. São Paulo, SP: Roca, 2006, cap. 27, p. 232-3.

COX, W. R. Avian pox infection in a Canada goose (*Branta canadensis*). **J. Wildl. Dis.** 1980. PubMed PMID: 6257937. p. 623–6.

ELEAZER, T. H.; HARREL, J. S.; BLALOCK, H. G. Transmission studies involving a wet fowl pox isolate. **Avian dis.** 1983, 27 p.542-544.

FERREIRA, B. C. et al. Outbreak of cutaneous form of avian poxvirus disease in previously pox-vaccinated commercial turkeys. **Pesq. Vet. Bras.** Rio de Janeiro, 2018 v. 38, n. 3, p. 417-42 Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2018000300417&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 02 jan. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-4463>

MINBAY, A. and KREIER. J. P. An experimental study of the pathogenesis of fowl pox infection in chickens. **AvianDis.** 1973, 17 p.532-9.

REVOLLEDO, L. P. Bouba aviária. In: _____; FERREIRA, A. J. P. (Orgs.). **Patologia aviária**. Barueri, SP: Manole, 2009. cap. 16, p. 154-156.

SANTOS, H. F. et al. Anticorpos contra vírus de galinha em cracídeos. **Ciência Rural**. 2009, vol.39, n.7, p. 2225-2228. ISSN 0103-8478. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009005000124>.

SANTOS, H. F. Bouba aviária. In: _____; LOVATO M. (Orgs.). **Doença das aves**. Lexington: Kindle Direct Publishing, 2018. cap. 2 p. 40-2.

TRIPATHY, D. N; and REED W. M. Pox. In SWAYNE D. E. et al. (Orgs.) **Diseases of poultry**, 13 ed. Blackwell Publishing, Ames, IA. 2013. Cap. 10, p. 333–350.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **2018 Poultry and Products Annual Report**. USDA. Ago. 2018. Disponível em: <<http://www.usdabrazil.org.br/pt-br/reports/poultry-and-products-annual-report-2018.pdf>>. Acesso em: 22 jan. 2019.

_____. **Annual Livestock 2018**. USDA. Abr. 2018. Disponível em: <<http://www.usdabrazil.org.br/pt-br/reports/livestock-and-products-annual-2018-2.pdf>>. Acesso em: 28 jan. 2019.

Capítulo I

BOUBA CUTÂNEA ATÍPICA E MISTA EM FRANGOS CAIPIRAS VACINADOS NO NORDESTE BRASILEIRO

Manuscrito formatado de acordo com as normas do periódico *Ciência Rural*

Bouba cutânea atípica e mista em frangos caipiras vacinados no nordeste brasileiro
Atypical and mixed cutaneous bouba in vaccinated country chicken in northeastern
Brazil

Rafanele Trajano Sousa¹ Francisca Maria Sousa Barbosa² Ricardo Barbosa de Lucena³

RESUMO

A bouba aviária é uma doença de distribuição mundial que afeta mais de 230 espécies aviárias. Nos últimos anos, estudos e relatos denotam as variações na forma da doença, com a descoberta de novas variantes e características de infecção. Com grande potencial de impacto negativo na produção avícola é necessário contínuo monitoramento dos casos com relato das interações epidemiológicas dos avipoxvírus com seus vetores e hospedeiros. Com esta finalidade este trabalho descreve caso atípico de bouba aviária em frangos caipiras vacinados. Observando lesões inerentes a avipoxvirus de diferentes espécies num mesmo surto.

Palavras-chave: Poxvírus, frangos vacinados, lesões atípicas, *Dermanyssus gallinae*, controle, histopatologia.

^{I,II} Acadêmico(a) do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal da Paraíba - UFPB, PB, Brasil. E-mail: rafaneletrajano@hotmail.com Autor para correspondência

^{II} Professor do Departamento de Ciências Veterinárias da UFPB, PB, Brasil.

ABSTRACT

The fowlpox is a worldwide distribution disease affecting more than 230 avian species. In recent years, studies and reports have reported variations in the form of the disease, with the discovery of new variants and characteristics of infection. With great negative impact on poultry production, continuous monitoring of the cases with reports of the epidemiological interactions of avipoxviruses with their vectors and hosts is necessary. For this purpose, this work describes the atypical case of avian buffalo in vaccinated cows. Observing lesions inherent to avipoxvirus of different species in the same outbreak.

Key words: Fowlpox, broilers vaccinated, atypical lesions, *Dermanyssus gallinae*, control, histopathology

INTRODUÇÃO

A avicultura caipira é uma atividade muito importante para agricultura familiar no Brejo paraibano, Nordeste do Brasil. De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017) mais de 1.000 pequenas propriedades comercializaram aves e 3.797 produziram ovos, contribuindo com renda e segurança alimentar nesta microrregião. Mas, em muitas destas propriedades o manejo sanitário é deficiente, condicionando a ocorrência de infecções como a boubá aviária.

A boubá aviária é uma doença que ocorre em todo o mundo e de grande importância econômica para avicultura (TRIPATHY & REED, 2013), pode se apresentar na forma cutânea, diftérica, cutânea atípica ou mista. Na forma cutânea, geralmente apresenta baixa mortalidade, mas pode causar grandes perdas em casos atípicos, que apresentam alta mortalidade e condenação de carcaças no abatedouro, como em casos relatados em frangos

por SENTÍES-CUÉ et al. (2010) nos Estados Unidos, BACK et al. (1995) no Sul do Brasil e FERREIRA et al. (2018) em perus em Minas Gerais.

A doença é causada por um *avipoxvirus* da família *poxviridae*. A transmissão demanda sempre de uma porta de entrada, seja pelo contato direto com as lesões e secreções da nasofaringe ou lesão por trauma ou causada por artrópodes (SANTOS, 2018), importantes na transmissão.

O diagnóstico pode ser clínico, microscópico, por isolamento e sorologia. Na histopatologia, a presença dos corpúsculos de inclusões intracitoplasmáticas, são sinais característicos (SANTOS, 2018). Não há tratamento e a prevenção é baseada em medidas de biossegurança, principalmente no estabelecimento de programa de vacinação baseado em informações sobre as cepas virais circulantes na região.

O objetivo deste trabalho é descrever um surto de bouba aviária nas formas cutânea atípica e mista em frangos caipiras vacinados no Brejo Paraibano, diagnosticado através dos sinais clínicos, achados macroscópicos e confirmados pelo exame histopatológico.

MATERIAIS E MÉTODO

O surto ocorreu em frangos caipira, em uma propriedade no município de Alagoa Grande-PB. Cento e oitenta aves caipiras com idades entre dois meses e um ano, eram criadas em abrigos cobertos por lona e com chão batido. Alimentadas com ração a base de milho, soja e núcleo (Mix de vitaminas e minerais).

Em visita realizada à propriedade, durante avaliação do bando, foi verificado, crescimento retardado das aves e infestação por *Dermanyssus gallinae*, relatada desde a segunda semana de idade. Também foram encontrados nódulos na pele de 40% das aves, das quais 20% apresentavam conjuntivite e coriza.

De acordo com o produtor, todas as aves foram vacinadas com vacina bouba aviária

forte (avipoxvírus pombo) sempre aos 35 dias de idade e os sinais surgiram após mudança de propriedade.

As aves haviam sido tratadas com enrofloxacina em solução oral a 10%, por cinco dias consecutivos. Durante o acompanhamento do surto, cinco aves morreram naturalmente e foram encaminhadas para necropsia.

O exame necroscópico foi realizado sob técnica convencional com os animais em decúbito dorsal com avaliação interna e individualizada dos órgãos. Amostras de todos os órgãos, inclusive da pele, foram colhidos em solução de formol a 10%, processadas rotineiramente, incluídas em parafina, cortados a 4µm, corados com hematoxilina e eosina (HE) e avaliados microscopicamente.

Para controle do surto, foi orientado o isolamento dos animais com sinais clínicos. Os que apresentavam sinais na pele, foi pincelada solução de iodo a 1% sobre as lesões, SID até a cura. Foi pulverizada solução de iodo a 0,1% em todas as instalações por três dias consecutivos, com redução posterior para duas vezes por semana. Adicionado iodo a água de dessedentação das aves, na concentração de 0,05%, com troca diária. As aves que não apresentavam sinais durante avaliação foram separadas e vacinadas com vacina viva poxvírus pombo. Para controle do *Dermanyssus gallinae* foram realizadas pulverizações das instalações e submersão rápida das aves parasitadas. Foram utilizadas soluções a base de cipermetrina a 0,5% e extrato de *Azadirachta indica* a 2%.

Todas as aves receberam suplementação de vitamina A e medicadas com sulfametaxazol e trimetropim para evitar complicações, conforme SANTOS (2018).

Como medida profilática foi orientada a vacinação para todas as propriedades circunvizinhas, bem como, realizado treinamento para a correta manipulação da vacina e imunização das aves.

RESULTADO

Todas as aves foram apresentadas com histórico de infestação por ectoparasitas, piolhos (*Dermanyssus gallinae*) (Fig.1A), retardo no crescimento, problemas respiratórios, e lesões nodulares disseminadas na pele.

Macroscopicamente, a pele apresentava lesões nodulares, pápulas, vesículas e pústulas, multifocais a coalescentes, que variavam de redondas a alongadas, brancacentas, distribuídas em todo o corpo, principalmente, nas regiões peitoral, ventral e dorso lateral (Fig. 1B). Algumas lesões apresentavam superfície ulcerada, amarelada ou crostosa. Também foi observada conjuntivite em ambos os olhos com secreção de branca a amarelada recobrando-os parcialmente (Fig. 1C).

Na cavidade nasal foi verificada secreção catarral amarelada. As coanas apresentava massa caseosa amarela. O lúmen traqueal apresenta formação de uma pseudomembrana amarelada e caseosa. O pulmão tinha áreas de aderências entre a pleura parietal. O coração apresentava marcada atrofia gelatinosa da gordura e líquido translúcido no interior do saco pericárdico.

Os sacos aéreos estavam espessos e preenchidos por massas amareladas e caseosas (Fig. 1D). No baço foram evidenciadas hemorragias multifocais e petéquiais na superfície capsular. O fígado de todos os frangos estava pálido, com aumento de volume e lesões multifocais brancas no parênquima.

Na avaliação microscópica da pele, foi verificada moderada hiperqueratose ortoceratótica na epiderme. Além de vesículas subcorneais preenchidas por material eosinofílico. Na derme superficial as células epiteliais apresentavam marcada degeneração balonosa (Fig. 2A) e corpúsculos de inclusão eosinofílico intracitoplasmáticos (corpos de Bollinger) (Fig. 2A - 2B). A derme profunda apresentava infiltrado de células gigantes multinucleadas, plasmócitos, linfócitos, macrófagos e tecido de granulação moderado, além

de hiperkeratose dos folículos e restos celulares em meio a áreas de necrose. Algumas áreas acima da epiderme até a derme profunda continham material caseoso composto por heterófilos, macrófagos, e restos celulares, circundando um foco de material basofílico mineralizado.

No pulmão observou-se perda da arquitetura dos parabrônquios com hiperplasia do epitélio, infiltração de heterófilos, macrófagos, fibrina. Restos bacterianos e celulares envoltos por células gigantes multinucleadas e macrófagos epitelioides, formando membranas diftericas no lúmen. Nos brônquios secundários, foi verificada hiperplasia e perda das células ciliares com infiltração de macrófagos epitelioides, células gigantes multinucleadas, heterófilos, linfócitos e agregados bacterianos e restos celulares, caracterizando broncopneumonia difterica.

O baço apresentava marcada necrose dos folículos linfóides e áreas multifocais com material fibrilar no interstício. No fígado foi evidenciada congestão, perda difusa dos hepatócitos com substituição por extensas e acentuadas áreas de fibrose. No intestino delgado foi verificado infiltrado inflamatório constituído por linfócitos, plasmócitos e macrófagos nas vilosidades, com degeneração e restos celulares e agregados bacterianos no lúmen do órgão. Jejuno com infiltrado de macrófagos, linfócitos e plasmócitos na submucosa e nas vilosidades. No proventrículo havia áreas multifocais de infiltrado inflamatório constituído por heterófilos e linfócitos. Não foram observadas lesões histológicas significativas nos outros tecidos examinados.

Em relação ao tratamento, após implantação das medidas de controle, foram interrompidas a morbidade e mortalidade em 40 e 15%, respectivamente, com diminuição mais evidente dos sinais clínicos a partir do sétimo dia de tratamento e cura alcançada após 35 dias. As medidas profiláticas também foram positivas, sem relatos de ocorrência por um ano na propriedade e nas propriedades circunvizinhas.

DISCUSSÃO

Os frangos desenvolveram lesões atípicas da boubas na pele, além de graves lesões diftéricas internas, caracterizando a forma mista da doença. A forma como a boubas aviária se apresenta, dentre outros fatores, é decorrente do tipo de cepa viral, forma de exposição ao vírus, estado imune da ave, complicações secundárias e momento da observação. A boubas cutânea típica apresenta lesões nodulares na pele da cabeça, pés e dedos, áreas desprovidas de pena, característica bem sugestiva para o diagnóstico clínico. No entanto, as suas formas mais graves podem se tornar um desafio diagnóstico (SENTÍES-CUÉ et al. 2010), como observado no presente estudo.

No presente surto, as lesões difusas na pele, inclusive envolvendo extensas áreas emplumadas, foram decorrentes da alta infestação por *Dermanyssus gallinae*. Esse ectoparasita pode transmitir o vírus durante o repasto sanguíneo (SHIRINOV et al. 1972), característica que culminou na disseminação das lesões por toda a pele. Distribuição atípica das lesões, foi relatada por SENTÍES-CUÉ et al. (2010) como primeiro caso desse tipo em frangos nos Estados Unidos. No Brasil essa apresentação da doença não tem sido relatada.

As lesões na pele, compatíveis com as descritas por BERNADINO (2009), indicam a infecção em diferentes estágios, inclusive com a descamação das crostas, condicionando a inalação ou contaminação da conjuntiva para ocorrência da forma diftérica, caracterizada por massas amareladas na cavidade nasal e pseudomembrana no lúmen traqueal, conforme relatado por TRIPATHY & REED (2013). O exsudato nos seios e traquéia, espessamento dos sacos aéreos e as lesões nos pulmões, com severas complicações respiratórias, foram também descritos por SHIVAPRASAD et al. (2009) em surto com alta mortalidade em canários (*Serinus canaria*).

As aves apresentavam extensas áreas de fibrose hepática que podem ser resultantes da boubas sistêmica, porém, não foram encontrados corpúsculos de inclusão nessas lesões que

permitissem a confirmação desta associação. Nódulos no fígado também foram verificados na descoberta de uma nova variante do avipoxvirus com infecção sistêmica em condor andino (*Vultur gryphus*) (KIM et al. 2003), evidenciando a ocorrência de lesões hepáticas nestes casos.

Alteração no baço, foi verificada em pesquisa com frangos experimentalmente infectados com avipoxvírus por via intravenosa. MINBAY & KREIER (1976) sugerem que só ocorre viremia nos órgãos internos nesta condição, o que poderia causar as alterações. Comparando três vias de inoculação, esses autores verificaram, também, que somente na via intravenosa, ocorreu doença grave com lesões disseminadas por toda pele e alta mortalidade, denotando a importância de insetos hematófagos neste tipo de transmissão, uma vez que, capilares podem ser acessados por artrópodes como o *Dermanyssus gallinae*. Premissas que corroboram com os resultados deste estudo.

Como descrito por TRIPATHY & REED (2013) na microscopia de casos de bouba, foi verificado alargamento e balonização das células infectadas. As alterações inflamatórias associadas com corpúsculos de inclusões intracitoplasmáticas são típicas dessa enfermidade (WOODRUFF & GOODPASTURE 1930). Tais corpúsculos são inclusive considerados um achado patognomônico da doença (SANTOS, 2018). Portanto, a observação dos corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos permitiu o diagnóstico definitivo, tanto da bouba cutânea (lesões típicas e atípicas), quanto das lesões internas.

A ocorrência da enfermidade em aves previamente vacinadas, pode ser explicada por deficiência no sistema imune, uma vez que as aves desde cedo apresentavam infestação por parasitas e desenvolvimento corporal retardado, ou até mesmo por manipulação inadequada da vacina, resultando na ineficácia da imunização. Também é denotado que durante a vacinação pode ocorrer contaminação das aves com a vacina através da conjuntiva ocular, ocasionando o desenvolvimento da doença (REVOLLEDO, 2009), hipótese afastada, a partir

dos aspectos epidemiológicos deste surto, tal qual, o intervalo da última imunização superior a 40 dias.

Nos Estados Unidos foram relatados isolamentos de avipoxvírus em surtos com alta mortalidade em frangos previamente vacinados (TRIPATHY & REED, 2013). No Brasil, FERREIRA et al. (2018) relatou forma cutânea atípica em perus vacinados. Estudos de proteção cruzada revelaram que alguns isolados têm relação imunológica limitada com as cepas utilizadas nas vacinas, indicando que estas podem não ser totalmente eficazes em fornecer imunidade protetora adequada contra um desafio com esses vírus (FATUNMBI & REED, 1996).

Neste cenário, infecções por avipoxvírus com as características descritas neste surto, têm potencial para causar grande impacto negativo na avicultura comercial brasileira. Como caso relatado por BACK et al. (1995) que sugerem que galinhas caipiras de subsistência criadas no entorno do surto e diagnosticadas com avipoxvírus, podem ter sido a fonte para a infecção das aves comerciais.

KUNERT-FILHO et al. (2016) apontam para importância de estudos e vigilância contínua sobre a ocorrência de boubas aviária em aves de produção para acompanhar a evolução e suas interações com as diferentes espécies hospedeiras, podendo representar um risco perigoso para o cenário de produção avícola brasileira. Neste caso, as medidas adotadas foram eficientes, pois mitigaram todos os fatores epidemiológicos envolvidos, desde a redução da carga viral em todo ambiente, controle do *Dermanyssus gallinae* à imunização das aves contactantes ou com potencial.

Como descrito, na análise histopatológica foram verificados sinais específicos da infecção por avipoxvirus nos frangos caipiras, indicando que pesquisas devam ser realizadas para identificação das cepas de avipoxvírus circulantes na região e assim prevenir perdas significativas na avicultura no futuro.

CONCLUSÃO

Através do presente estudo, é elucidada a presença do avipoxvírus no brejo paraibano, denotando sua interação com o vetor e demais fatores que atuam no estabelecimento de casos atípicos e mais graves, que podem causar impactos negativos relevantes a avicultura regional, demandando mais pesquisas de agregação de dados e informações sobre o tema.

REFERÊNCIAS

BACK A. et al. An Atypical Fowl Pox Outbreak in Broilers in Southern Brazil. **Avian Diseases**, v.39(4), p.902-6, 1995. <doi:10.2307/1592431><PMid:8719228>.

FATUNMBI O.O. & REED W.M. Evaluation of a Commercial Modified Live Virus Fowl Pox Vaccine for the Control of ‘Variant’ Fowl Poxvirus Infections. **Avian Diseases**, v.40(3), p.582–7, 1996. <PMid:8883788>

FERREIRA B.C. et al. Outbreak of cutaneous form of avian poxvirus disease in previously pox-vaccinated commercial turkeys. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38(3), p.417-42, 2018. <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-4463>>

IBGE. **Censo agropecuário 2017**: resultados preliminares. SIDRA. Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuario/censo-agropecuario-2017>>. Acesso em 02 jan. 2019.

KIM T. J. et al. Characterization of an avianpox virus isolated from an Andean condor (*Vultur gryphus*). **Veterinary Microbiology** v.96(3), p.237-46, 2003 <<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.08.003>>.

KUNERT-FILHO H.C. et al. First phylogenetic analysis of Avipoxvirus (APV) in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36(5), p.357-62, 2016. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X20160005000001>>.

MINBAY A. & KREIER. J.P. An experimental study of the pathogenesis of fowl pox infection in chickens. **Avian Diseases.** v.17, p.532-9, 1973. <DOI: 10.2307/1589151><PMid:4355963>.

REVOLLEDO L.P. Boubá aviária. In: IBD., FERREIRA A.J.P. (Orgs.). **Patologia aviária.** Manole, Barueri, SP, 2009. 16, p.154-6.

SANTOS H.F. Boubá aviária. In: ibd., LOVATO M. (Orgs.). **Doença das aves.** Lexington: Kindle Direct Publishing, 2018. 2, p.40-2.

SENTÍES-CUÉ C.G. et al. Atypical distribution of fowl pox lesions in broilers. **Avian Diseases**, v.54(4), p.1316-18, 2010. <<https://doi.org/10.1637/9426-061510-Case.1>>.

SHIRINOV F.B. et al. Spread of fowl pox *Dermanyssus galinae*. **Veterinarya (Moscow)**, v.4, p.48-9, 1972. (resumo). Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19722200639>>. Acesso em 15 dez. 2018.

SHIVAPRASAD H.L. et al. Unusual pathology of canary poxvirus infection associated with high mortality in young and adult breeder canaries (*Serinus canaria*), **Avian Pathology**, v.38(4), p.311-6, 2009. <DOI: 10.1080/03079450903061643>

TRIPATHY D.N. & REED W.M. Pox. In SWAYNE D.E., et al. (Orgs.) **Diseases of poultry**, 13 ed. Blackwell Publishing, Ames, IA. 2013. 10, p.333–350.

WOODRUFF C.E. & GOODPASTURE E.W. The Relation of the Virus of Fowl-Pox to the Specific Cellular Inclusions of the Disease. **American Journal of Pathology.** v.6, p.713–20, 1930. <PMCID:PMC2007351>.

FIGURAS

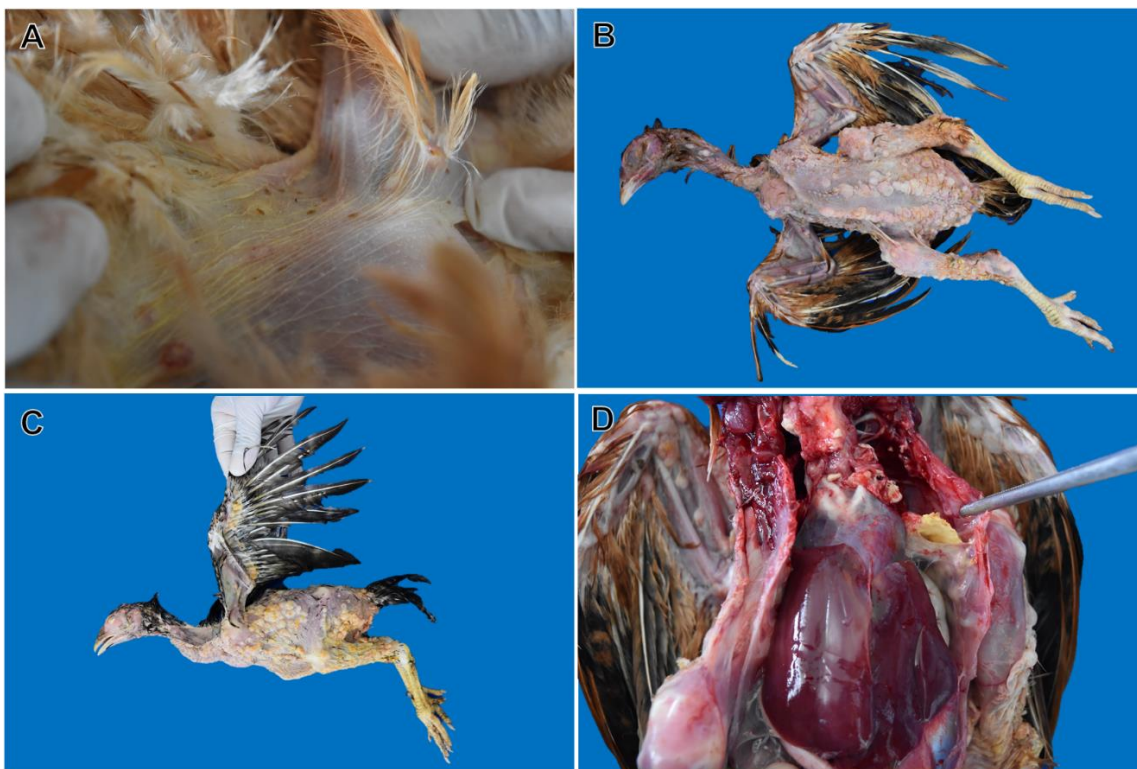


Fig.1. (A) Infestação por *Dermanyssus gallinae* em frangos acometidos por bouba. Presença do ectoparasita na pele. (B) Lesões redondas a alongadas, brancacentas, nas áreas do peito, asas, pescoço, coxas e região ventral. (C) Lesões coalescentes, amareladas e crostosas na região dorso-lateral e coxas, glóbulo ocular parcialmente recoberto por secreção caseosa. (D) Espessamento do saco aéreo preenchido com massa caseosa.

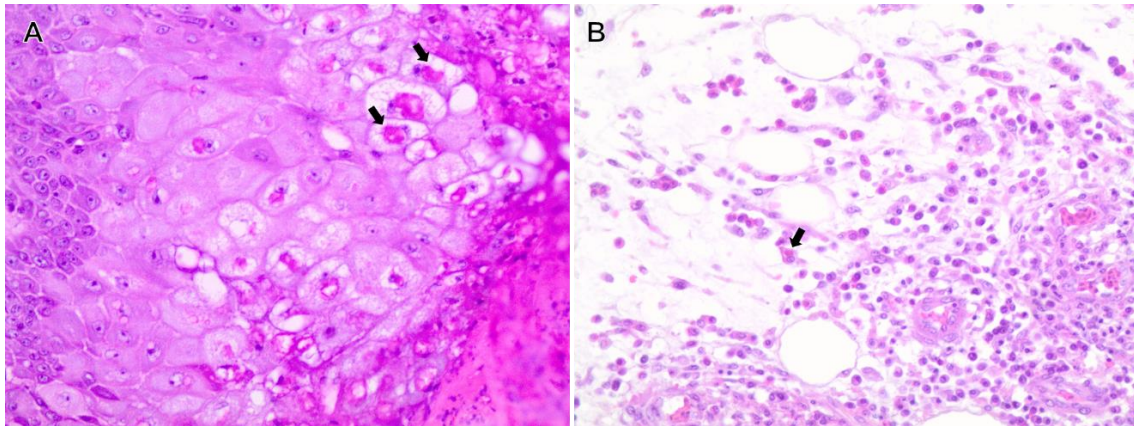


Fig. 2. Aspectos histopatológicos da bouba em frangos. **(A)** Degeneração balonosa das células epiteliais da epiderme, com a presença de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos característicos (corpos de Bollinger) (setas). HE, obj. 40x. **(B)** Corpúsculos de inclusão eosinofílicos intracitoplasmáticos (corpos de Bollinger) na derme (seta). HE, obj. 20x.